

КИНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФОСФОГЛЮКОМУТАЗНОЙ РЕАКЦИИ В ЭНДОКРИННЫХ ЖЕЛЕЗАХ

Гидранович В.И., Гидранович Л.Г.

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Введение. Метаболизм углеводов занимает одно из центральных мест в биоэнергетических и биосинтетических процессах, обеспечивая энергетические потребности клетки в анаэробных и аэробных условиях.

Мобилизация гликогена (гликогенолиз) осуществляется тремя ферментами: гликоген-фосфорилазой, олигосахарид-трансферазой и α -1,6-гликозидазой. В результате этих реакций гликоген расщепляется до глюкозо-1-фосфата (Г-1-Ф) ((90%) и глюкозы (10%). Г-1-Ф включается в гликолитический путь после превращения в глюкозо-6-фосфат (Г-6-Ф). Реакцию катализирует фосfogлюкомутаза (ФГМ), которая сопряжена с высокоактивной глюкозофосфат-изомеразой (ГФИ) [1]. При наличии в тканях высокоактивной ГФИ образовавшийся Г-6-Ф легко изомеризуется во фруктозо-6-фосфат (Ф-6-Ф).

Цель работы – изучение кинетических параметров фосfogлюкомутазной реакции в эндокринных железах.

Материал и методы. В качестве модели использовали эндокринные железы быка. Гомогенаты готовили в холодной камере на 0,05 М трис-НСl буфере, pH 7,4. В инкубационные смеси добавляли Г-1-Ф. Концентрацию Г-1-Ф определяли после инкубации по содержанию кислотолабильного фосфора. Содержание Г-6-Ф и Ф-6-Ф исследовали энзиматическими методами с использованием кристаллической Г-6-Ф-ДГ, ГФИ и NADP^+ , белок определяли по Lowry. Для определения K_m и V_{max} по данным ряда измерений скорости при различных концентрациях субстрата (S) пользовались графиками по уравнению Михаэлиса – Ментен (двойных обратных величин): $[S]/v_0 = K_m/V_{max} + 1/V_{max} \cdot [S]$ [2].

Результаты и обсуждение. Определение начальной скорости (v_0) ФГМ при различных концентрациях Г-1-Ф позволило установить ее зависимость от концентрации S (табл.1). Реакция подчиняется закономерностям схемы Михаэлиса-Ментен, определяющей общие механизмы энзиматических реакций.

Таблица 1 – Зависимость скорости ФГМ реакции в эндокринных железах от концентрации субстрата и времени реакции ($n \cdot 10^{-2} \text{мкМ} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$ белка)

| Г-1-Ф (мМ) | Время инкубации | | | | |
|---------------------------------------|-----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 5 | 15 | 30 | 45 | 60 |
| Кора надпочечников (n=6) | | | | | |
| 1 | 1,63±0,26 | 1,00±0,04 | 0,62±0,05 | 0,45±0,04 | 0,34±0,02 |
| 2 | 2,25±0,27 | 1,35±0,18 | 0,97±0,10 | 0,81±0,12 | 0,72±0,07 |
| 4 | 2,33±0,31 | 1,56±0,23 | 1,14±0,09 | 1,08±0,13 | 0,98±0,09 |
| 8 | 2,66±0,27 | 1,64±0,17 | 1,32±0,14 | 1,22±0,12 | 1,09±0,10 |
| 16 | 2,10±0,34 | 1,54±0,15 | 1,16±0,16 | 1,11±0,15 | 1,06±0,14 |
| Мозговое вещество надпочечников (n=5) | | | | | |
| 1 | 0,42±0,03 | 0,42±0,04 | 0,33±0,02 | 0,28±0,02 | 0,30±0,02 |
| 2 | 0,89±0,04 | 0,58±0,06 | 0,46±0,02 | 0,42±0,03 | 0,39±0,02 |
| 4 | 0,94±0,10 | 0,73±0,13 | 0,63±0,05 | 0,52±0,02 | 0,53±0,03 |
| 8 | 1,23±0,11 | 0,93±0,14 | 0,69±0,05 | 0,63±0,06 | 0,61±0,06 |
| 16 | 1,09±0,20 | 1,21±0,21 | 0,71±0,12 | 0,59±0,08 | 0,57±0,08 |
| Поджелудочная железа (n=8) | | | | | |
| 1 | 1,21±0,18 | 0,84±0,07 | 0,54±0,06 | 0,37±0,03 | 0,31±0,04 |

| | | | | | |
|-------------------------|-----------|-----------|-----------|------------|-----------|
| 2 | 1,68±0,13 | 1,18±0,11 | 0,95±0,09 | 0,68±0,06 | 0,58±0,05 |
| 4 | 2,69±0,17 | 1,78±0,11 | 1,43±0,17 | 1,02±0,08 | 0,92±0,07 |
| 8 | 3,46±0,21 | 2,15±0,13 | 1,88±0,23 | 1,43±0,10 | 1,28±0,10 |
| 16 | 3,52±0,22 | 2,21±0,20 | 2,04±0,25 | 1,62±0,14 | 1,58±0,13 |
| Щитовидная железа (n=6) | | | | | |
| 1 | 0,37±0,02 | 0,26±0,02 | 0,21±0,01 | 0,07±0,005 | 0,13±0,01 |
| 2 | 0,51±0,02 | 0,34±0,02 | 0,28±0,02 | 0,24±0,02 | 0,20±0,02 |
| 4 | 0,70±0,04 | 0,42±0,03 | 0,33±0,02 | 0,31±0,02 | 0,44±0,03 |
| 8 | 0,82±0,06 | 0,67±0,04 | 0,53±0,04 | 0,45±0,04 | 0,37±0,03 |
| 16 | 0,93±0,07 | 0,80±0,04 | 0,59±0,05 | 0,51±0,04 | 0,42±0,04 |

В коре и мозговом веществе при низких концентрациях Г-1-Ф (1-2 мМ) ФГМ реакция протекает по типу реакций первого порядка. В поджелудочной и щитовидной железах реакция протекает по типу первого порядка при 1-4 мМ концентрациях Г-1-Ф. С повышением концентрации S до 8 мМ происходит замедление скорости ФГМ во всех железах и она протекает по смешанному типу со своими особенностями и достигает нулевого порядка. В коре и мозговом веществе надпочечников при 16 мМ концентрации Г-1-Ф имеет место субстратное ингибирование ФГМ реакции. Наиболее четко выражено субстратное ингибирование реакции в коре надпочечников. Так с удвоением концентрации S от 8 до 16 мМ скорость ФГМ реакции снижается и составляет 78,94 % по отношению к скорости при 8 мМ концентрации.

Коэффициенты Г-1-Ф/Г-6-Ф со временем уменьшаются, величина имеет обратную зависимость со скоростью ФГМ реакции, в течение 60 мин не наступает равновесие в мутазной части реакции. Мутазно-изомеразная реакция достигает равновесия всех железах и устанавливается в коре надпочечников и щитовидной железе при содержании 53% Г-6-Ф и 48 % Ф-6-Ф; в поджелудочной железе – 59% Г-6-Ф и 41 % Ф-6-Ф; в мозговом слое надпочечников – 50 % Г-6-Ф и 50 % Ф-6-Ф.

Таблица 2 – Кинетическая характеристика ФГМ

| Железы | Km (М) | Vmax (мкмоль•мин ⁻¹ •мг ⁻¹ белка) |
|---------------------------------|-----------------------|---------------------------------------------------------|
| Кора надпочечников | 1,00•10 ⁻³ | 3,00•10 ⁻² |
| Мозговое вещество надпочечников | 1,80•10 ⁻³ | 1,31•10 ⁻² |
| Поджелудочная железа | 2,40•10 ⁻³ | 3,79•10 ⁻² |
| Щитовидная железа | 2,0•10 ⁻³ | 1,14•10 ⁻² |

Если исходить из того, что Km является величиной, обратной сродству фермента к S, а Vmax представляет меру константы скорости распада фермент-субстратного комплекса, то анализ полученных констант (табл.2) показывает, что ФГМ различных желез характеризуется своими особенностями. Оценивая сродство фермента к субстрату по величине 1/Km мы обнаружили, что ФГМ коры надпочечников имеет самое высокое сродство к Г-1-Ф равное 1; мозгового вещества надпочечников – 0,56; щитовидной железы – 0,50; поджелудочной железы – 0,41. ФГМ поджелудочной железы при низком сродстве к S характеризуется высокой Vmax, а коры надпочечников при высоком сродстве к S высокой и Vmax.

Выводы.

1. Активность ФГМ характеризуется тканевой специфичностью и является лимитирующим фактором в мутазно-изомеразном превращении Г-1-Ф.

2. ФГМ эндокринных желез характеризуется неодинаковым сродством к Г-1-Ф и Vmax. В коре и мозговом веществе надпочечников имеет место субстратное ингибирование ФГМ.

Литература:

1. Гидранович В.И. Кинетическая характеристика глюкозофосфат-изомеразы / В.И. Гидранович, Л.Г. Гидранович // Достижения фундам., клин. медицины и фармации : материалы 74 науч. сессии ВГМУ, Витебск, 23–24 янв. 2019 г. /под ред. А.Т. Щастного. – Витебск : ВГМУ, 2019. – С. 274–276.

2. Диксон М. Ферменты : в 3 т. / М. Диксон, Э. Уэбб. – М., 1982. – Т. 1. – 392 с. – Т. 2. – 515 с. – Т. 3. – 1120 с.

УДК [612.4:612.816]:612.017.2

ФРИЗИНГ КАК ПРОЯВЛЕНИЕ РЕАКЦИИ СТРАХА-ТРЕВОГИ ПРИ СТРЕССЕ У ЖИВОТНЫХ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ЙОДСОДЕРЖАЩИХ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ В КРОВИ

Городецкая И.В., Гусакова Е.А.

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Введение. В настоящее время тревожные расстройства являются наиболее распространенными нарушениями психики, что наносит значительный экономический ущерб обществу. По данным различных популяционных исследований, около 30% населения страдают от патологической тревоги в течение всей жизни. Это делает важной задачей современной физиологии и медицины разработку новых средств коррекции тревожных расстройств. Для изучения их этиологии и патогенеза, а также для оценки эффективности методов профилактики и лечения изучается замирание (фризинг) экспериментальных животных в тесте «открытое поле». Общее значение данного показателя и его величина на периферии отражают интенсивность реакции страха-тревоги.

Цель работы – изучить выраженность фризинга у животных с различным тиреоидным статусом в условиях эмоционального стресса.

Материал и методы: Эксперимент выполнен на 60 белых беспородных половозрелых крысах-самцах массой 220-240 г. Для моделирования эмоционального стресса создавали «дефицит времени» [2]. Тиреоидный статус изменяли путем внутрижелудочного введения, с одной стороны, «Мерказолила» (25 мг/кг 20 дней), с другой, «L-тироксина» в малых дозах (1,5-3 мкг/кг 28 дней). Концентрацию йодсодержащих тиреоидных гормонов (ЙТГ) (тироксина (Т₄), трийодтиронина (Т₃), и их свободных фракций (Т₄св и Т₃св) в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом. В тесте «открытое поле» крыс исследовали в течение 3 минут. Использовали видеосистему SMART и программное обеспечение SMART 3.0. Фризинг определяли по времени замирания крыс в центре и на периферии «открытого поля», а также по общей длительности замирания. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Statistica 10.0» (StatSoft inc., STA999K347156-W). Для попарного сравнения групп использовали U-критерий Манна-Уитни. Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез был принят $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Стресс «дефицита времени» вызвал повышение концентрации ЙТГ в крови, особенно, их свободных фракций: Т₃ на 18%, Т₄ на 22%, Т₃ св на 30%, Т₄ св на 32% ($p < 0,01$). Общая длительность замирания крыс, перенесших стресс, увеличивалась – на 49% ($p < 0,05$) за счет возрастания времени неподвижности в периферической зоне, которое возрастало на 65% ($p < 0,01$). Следовательно, примененное нами воздействие вызвало появление реакции страха-тревоги у экспериментальных животных.

Введение мерказолила сопровождалась уменьшением сывороточного уровня ЙТГ: Т₃ на 34%, Т₄ на 37%, Т₃ св на 40%, Т₄ св на 39% ($p < 0,01$). Длительность замирания гипотиреоидных животных в периферической зоне «открытого поля» увеличивалась на